

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant : GIOVANNI MOGNA
Appl. No. : 10/538,151
Filed : JUNE 8, 2005
Docket No. : HOFF-38315

DECLARATION OF GIOVANNI MOGNA

Giovanni Mogna declares as follows.

1. I presently reside in Novara, Italy.
2. I am the sole inventor of the above-referenced U.S. Patent Application No. 10/538,151.
3. I was honored to receive on December 2, 2009 a *Laurea ad Honorem* in Industrial Biotechnologies from the University of Modena and Reggio Emilia.
4. I received a Bachelor's Degree in Food Science from the University of Milan in 1979. I have published two articles in professional journals (see <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). I am named as inventor/co-inventor in almost sixty patent applications/patents filed in many countries in the world (see <http://www.espacenet.com>).
5. I have worked with and have studied lactic bacteria for approximately 25 years. I am a co-owner of Mofin S.r.L., the assignee of the above-referenced U.S. Patent Application No. 10/538,151.
6. Several experiments regarding the above invention were conducted under my supervision. The results and discussion of the experiments are attached hereto as Examples 1-3 and Tables 1A and 2. In Example 3, samples were assessed by thromboelastography; this refers to the determination of the aptitude to milk coagulation of each sample 1-4. See Table 2 for the results of the thromboelastographic analysis. Example 3 confirms that the claimed strains of my

invention have the properties to provide greater aptitude to coagulation of milk (see samples 2 and 4). Further, Example 3 confirms that *Lactobacillus plantarum* LMG P-21385 does not work as a starter culture, contrary to the position taken by the Examiner in the most recent Office action.

7. Example 1 (A) and Table 1 (A) - Assessment of caseins proteolysis - confirm that the claimed strains are not responsible for proteolysis, contrary to Khalid et al (R1) (page 3068, introduction, paragraph 2) and the Examiner's statement (page 3, paragraph 8, in the Final Action).

8. Example 2 - Electrophoretic analysis of milk caseins in different samples of milk - confirms that no hydrolysis is obtained in the milk sample 3 (lane 4) and milk sample 4 (lane 5) in comparison with the mix of the three caseins (lane 7), contrary to R1 (page 3068, introduction, paragraph 3) and the Examiner's statement (page 3, paragraph 9, in the Final Action).

9. In view of the foregoing experimental data, it is my opinion that R1 does not represent a relevant document against the present claims of the above-referenced patent application and does not render, alone or with R2, my invention obvious.

10. I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under 18 U.S.C. 1001 and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.

Signature:


GIOVANNI MOGNA

December 15, 2010

Encl.:

Curriculum Vitae Giovanni Mogna

Example 1: Assessment of caseins proteolysis

A: Proteolysis is routinely monitored in studies on cheese ripening and is a useful index of cheese maturity and quality. The principal and essential role of the coagulant in cheese-making is the specific hydrolysis of κ -casein, as a result of which the colloidal stability of the casein micelles is destroyed and coagulation occurs under suitable conditions. The primary chymosin cleavage site in the milk protein system is the Phe₁₀₅-Met₁₀₆ bond in κ -casein. β -casein undergoes very little proteolysis by chymosin in cheese

Besides aptitude to coagulation, we analyzed possible hydrolysis of caseins using two different methods: Hull analysis and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.

In detail, Hull protocol is aimed at detecting even traces of the free amino acid tyrosine, while electrophoresis is able to highlight also a low extent hydrolysis, for example the cleavage of a single casein site.

Both methods demonstrated that no hydrolysis occurred after an incubation of milk with *L. plantarum* LMG P-21385 strain for 18 hours at 12°C. This evidence demonstrates that the increase of aptitude to coagulation of the milk is completely independent from caseins hydrolysis.

References

Patrick F. Fox, P. F. Fox, Timothy M. Cogan, Timothy P. Guinee. Fundamentals of cheese science.



Example 2: Electrophoretic analysis of milk caseins in different samples of milk

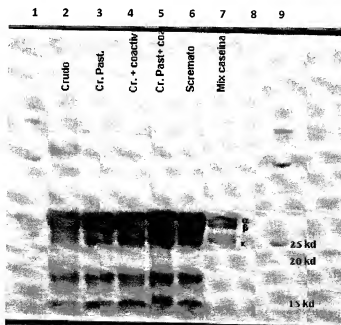
Caseins have been separated by Sodium Dodecyl Sulfate - PolyAcrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) using a 12% Acrylamide/Bisacrylamide gel.

In detail, samples analyzed were:

1. Raw milk incubated at 12°C for 18 hours without any strain;
2. Raw milk incubated at 12°C for 18 hours without any strain and then pasteurized;
3. Raw milk inoculated with 0.5% (volume/volume) of *Lactobacillus plantarum* LMG P-21385 and then incubated at 12°C for 18 hours;
4. Raw milk inoculated with 0.5% (volume/volume) of *Lactobacillus plantarum* LMG P-21385 and then incubated at 12°C for 18 hours. At the end of incubation the milk was pasteurized.

Legend

Lane 1 e 9 markers with molecular weights between 10 kDa and 250 kDa
Lane 2 milk sample 1
Lane 3 milk sample 2
Lane 4 milk sample 3
Lane 5 milk sample 4
Lane 6 skimmed milk
Lane 7 mix of the three lyophilized caseins (α , β , κ)



No hydrolysis could be inferred from the above figure (comparison between lane 7 and lanes 4 or 5).

94

Example 3

A: Samples assessed by thromboelastography

A certain amount of raw milk was received by us and split into 4 different samples:

1. Raw milk incubated at 12°C for 18 hours without any strain;
2. Raw milk inoculated with 0.5% (volume/volume) of *Lactobacillus plantarum* LMG P-21385 and then incubated at 12°C for 18 hours;
3. Raw milk incubated at 12°C for 18 hours without any strain and then pasteurized;
4. Raw milk inoculated with 0.5% (volume/volume) of *Lactobacillus plantarum* LMG P-21385 and then incubated at 12°C for 18 hours. At the end of incubation the milk was pasteurized.

The above experimental conditions (T°C, time) correspond to those used on the present patent application (see Example 1).

At the end of each treatment, all the milk samples were heated to a predefined temperature and added with rennet to induce coagulation. The aptitude to coagulation of each sample was assessed using a FOSS Italia lactodynamograph.

In particular, "r" parameter represents flocculation time (a), "A30" stands for amplitude of the coagulum after a fixed period of time, that is to say 30 minutes (c), "K20" is the firming time (b), in detail the time needed to reach a coagulum amplitude of 20 mm, or 2 cm.

r and K20 parameters are the most important ones in the view of cheese-making.

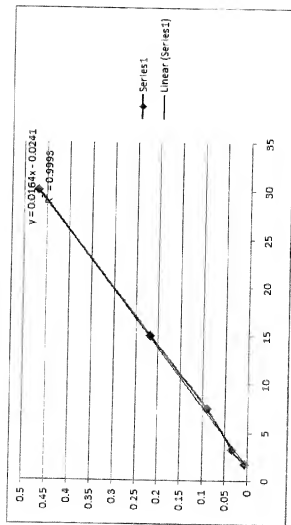
B: Results of thromboelastographic analysis

The comparison between sample 1 and 2, or 3 and 4 as well, is really significant. It is well known, in fact, that pasteurization negatively affects coagulation parameters, especially r and K20 (comparison between samples 1 and 3). Both values are increased after pasteurization, meaning that flocculation time is longer and also time needed to achieve a definite amplitude of the coagulum is increased. The incubation of milk with *Lactobacillus plantarum* LMG P-21385 added at 0.5% is able to almost completely revert the negative effects of pasteurization (K20 of 3:39 minutes in sample 4 compared with 2:44 minutes of sample 1). The addition of the same strain to raw milk is able to slightly to moderately improve the most important coagulation indices.

This mechanism is well different from the typical activity of starter cultures. In our experiment, this strain was completely inactivated by the pasteurization step performed before rennet addition and aptitude to coagulation evaluation. Therefore, the improvement of milk coagulation is independent of the presence of *L. plantarum* LMG P-21385 viable cells in the milk during the thromboelastographic analysis. This means that the *L. plantarum* LMG P-21385 does not work as a starter culture.

Assessment of milk proteins hydrolysis by Hull method: Table 1A

Calibration curve HULL		Milk samples	Addition of strains	Incubation	Subsequent pasteurization	Absorbance	Concentration (µg/ml)
Conc (microg/ml)	A35						
30	0.469	Raw milk	no	12°C for 18 hours	no	0.069	5.677
15	0.219	Raw milk	<i>L. plantarum</i> LMG P-21385	12°C for 18 hours	no	0.065	5.433
7.5	0.091	Raw milk	no	12°C for 18 hours	yes	0.058	5.006
3.25	0.035	Raw milk	<i>L. plantarum</i> LMG P-21385	12°C for 18 hours	yes	0.055	4.823
1.68	0.005						



$$y = ax + b$$

$$a$$

$$0.0164$$

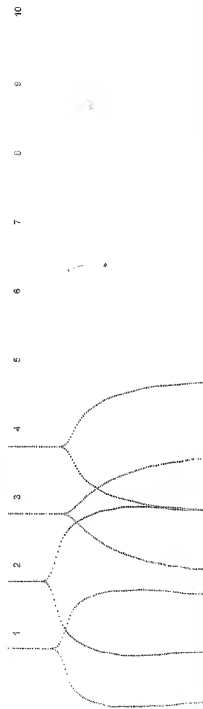
$$b$$

$$-0.0241$$

$$x = (y - b) / a$$

21

Table 2

**Legend:**

- 1 = raw milk without any strain
 2 = raw milk inoculated with 0.5% of *L. plantarum* LMG P-21385
 3 = raw milk inoculated without any strain and then pasteurized
 4 = raw milk inoculated with 0.5% of *L. plantarum* LMG P-21385 and then pasteurized

Well	Sample	Aptitude	r	A30	K20	A2r
1	Raw milk		07.01	34.1	02.44	35.84
2	Raw milk + 0.5% <i>L. plantarum</i>		05.49	44.2	02.11	40.74
3	Pasteurized milk		08.50	34.3	06.40	26.34
4	Pasteurized milk + 0.5% <i>L. plantarum</i>		08.21	39.56	03.39	33

2

CURRICULUM VITAE

INFORMAZIONI PERSONALI

Nome **MOGNA, GIOVANNI**
Indirizzo **13/B, VIALE ROMA, 28100, NOVARA, ITALIA**
Telefono **0321 613009**
E-mail **MOFINALCE@TIN.IT**

Nazionalità **ITALIANA**

Luogo e data di nascita **NOVARA, 23 OTTOBRE 1950**

ESPERIENZA LAVORATIVA

- Date (1969-1984)
- Nome e indirizzo della sede lavorativa
- Tipo di impiego
- Principali mansioni e responsabilità
- Punti salienti dell'attività

Laboratorio Microbiologico ALCE, 12 Via P. Custodi, 28100 Novara (Italia)

Ricercatore

Produzione di lattoinnesti (fermenti lattici) per l'industria lattiero-casearia

Nel 1979, al termine degli studi universitari, aumenta gli impegni nell'azienda paterna, assumendo anche le responsabilità commerciali

Nel 1980 fonda la società Biolab, una ditta individuale che mise a punto il primo controllo di qualità del latte, ottimizzato per la produzione casearia

- Date (dal 1984)
- Nome e indirizzo della sede lavorativa
- Tipo di azienda o settore

Presidente del Gruppo

Gruppo Mofin Alce, 12 Via P. Custodi, 28100 Novara (Italia)

Tel.: 0321 612391, fax: 0321 391223, e-mail: mofinalce@tin.it

Il Gruppo Mofin Alce al momento comprende diverse Società costituite nel corso degli ultimi tre decenni, quali Probiolact, Probiolact Healthcare, Concorde, Centro Ricerche Casearie e Biolab Research

Produzione di colture starter (batteri, lieviti e Penicilli) in forma liquida tradizionale, liquida concentrata, congelata o liofilizzata destinate alla caseificazione -compresi i formaggi DOP quali Gorgonzola, Grana Padano e Provolone-, alla panificazione ed alla maturazione di carni insaccate
Preparazione di terreni industriali semi-diretti per la produzione di colture starter in diverse forme fisiche in caseificio o in strutture ad esso direttamente collegate (possibilità di vendita in mercati esteri)

Purificazione delle proteine enzimatiche destinate alla coagulazione del latte (caglio o presame) a partire dagli abomas di bovini lattanti o in età giovanile

Realizzazione di processi industriali di spray-drying di diverse materie prime o intermedi, anche a valenza biologica o microbiologica

Produzione di ceppi probiotici in forma liofilizzata sia di grado alimentare che farmaceutico, anche destinati all'utilizzo in formulazioni pediatriche (produzioni allergen-free)

Fabbricazione di prodotti finiti probiotici e simbiotici commercializzati sia come integratori alimentari che come medical devices



- Tipo di impiego
- Principali mansioni e responsabilità
- Punti salienti dell'attività

Presidente

Presidente del Gruppo dal 1984 con assunzione anche delle responsabilità amministrative e di quelle relative all'assistenza tecnica presso i clienti

Decisione anche autonoma delle principali strategie aziendali, sia nel settore delle colture starter che in quello dei probiotici

Nel 1984 fonda la ditta Anidral Srl, centro ricerche che si occupa sia di fermenti lattici anidri per il settore lattiero-caseario ed agro-zootecnico che di fermenti lattici probiotici per il settore farmaceutico

Nel 1987 fonda il Laboratorio Microbiologico Grana Provolone Srl che si occupa di produzione di innesti naturali liquidi per i formaggi Grana e Provolone, aprendo una strada biologica completamente nuova che ha portato all'eliminazione dell'uso degli additivi chimici in tali formaggi

Tra la fine del 1988 e il 1989 trasforma la vecchia società paterna nella finanziaria capogruppo Mofin Srl e rifonda l'ALCE Srl

Nel 1991, assieme alla francese Sanofi (per importanza il secondo gruppo europeo nel settore farmaceutico) fonda la SAMO Srl con il preciso scopo di poter aumentare gli investimenti nella ricerca scientifica e facilitare gli interscambi commerciali italo-francesi nel settore delle biotecnologie

Nel 1994 inizia a Novara la costruzione di quello che deve divenire il più importante "Centro Ricerche Biotecnologiche" per il settore lattiero-caseario ed agro-zootecnico presente oggi in Europa

Nel 1995 fonda il Centro Ricerche Casearie Srl che si occupa di trasferire parte del know-how acquisito dal Centro Ricerche Biotecnologiche in ricerca applicata alla tecnologia casearia

Nel 1995 fonda la Concorde Srl, con sede nella provincia di Mantova, che si occupa della preparazione di caglio di vitello, l'unico coagulante naturale ammesso dai Disciplinari di Tutela nella produzione di Parmigiano-Reggiano

Nel 1996, su proposta del Presidente del Consiglio dei Ministri, gli viene conferita dal Presidente della Repubblica l'onorificenza di "Cavaliere al Merito della Repubblica Italiana"

Nel 1997 trasforma il Biolab da ditta individuale in Biolab Controllo Qualità Srl. Viene anche potenziato nell'organico e nelle attrezzature; viene accreditato al Ministero della Sanità secondo le norme UNI CEI 45001 ed allarga il suo campo di azione anche all'autocontrollo e all'HACCP per le aziende che operano nel settore lattiero-caseario

Nel 2000 fonda la Probiotal Srl che si occupa della commercializzazione delle colture probiotiche in forma liofilizzata prodotte da Anidral

Nel 2002 il Biolab Controllo Qualità Srl viene trasformato in Biolab Assicurazione Qualità Srl, ponendosi sempre più, da un lato, al servizio dei clienti, soprattutto nel settore lattiero-caseario e, dall'altro, rinforzando il Sistema Qualità interno dell'azienda

Nel mese di maggio 2008 la società Anidral Srl viene trasformata in Probiotal SpA e, parallelamente, la Probiotal Srl è trasformata in Probiotal Healthcare Srl, sottolineando ancora una volta l'attenzione crescente nei confronti del benessere e della salute dell'uomo, riassunta nel motto "Vivi meglio e più a lungo...naturalmente"

Nel mese di ottobre 2008, parallelamente alla costituzione del nuovissimo Centro Ricerche, completamente in *clean rooms* e operante secondo standard qualitativi d'eccellenza, Biolab Assicurazione Qualità Srl è trasformato in Biolab Research Srl



ISTRUZIONE E FORMAZIONE

2 dicembre 2009

- Date (da ottobre 1969 a novembre 1979)

- Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione

- Principali materie / abilità professionali oggetto dello studio

- Qualifica conseguita

- Date (da settembre 1964 a luglio 1969)

- Nome e tipo di istituto di istruzione o formazione

- Qualifica conseguita

CAPACITÀ E COMPETENZE PERSONALI

MADRELINGUA

ALTRE LINGUE

- Capacità di lettura
- Capacità di scrittura
- Capacità di espressione orale

Conferimento di Laurea Specialistica *ad Honorem* in Biotecnologie Industriali da parte dell'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

Facoltà di Agraria

Corso di Laurea in Scienze delle Preparazioni Alimentari, matr. n. 82200

Tesi sperimentale coordinata dal Prof. Pier Paolo Resmini e condotta presso la Galbani SpA in cui si è occupato di prove di caseificazione di formaggio Gorgonzola che prevedevano l'utilizzo di diversi tipi di muffe (*Penicillium weidmanni* var. *fuscum*) da lui stesso prodotte, in combinazione con diversi tipi di coagulanti del latte

Università degli Studi di Milano, Via Festa del Perdono 7, 20122 Milano

Microbiologia generale, Biochimica, Chimica analitica, Chimica fisica, Chimica organica, Economia Agro-alimentare, Microbiologia industriale, Microbiologia degli Alimenti, Igiene, Processi della Tecnologia alimentare, Alimentazione e Nutrizione umana

- gestione di linee di produzione, trasformazione e commercializzazione degli alimenti;
 - studio, progettazione, direzione, sorveglianza, conduzione e collaudo dei processi di lavorazione degli alimenti e di prodotti biologici correlati, ivi compresi i processi di depurazione degli effluenti e di recupero dei sottoprodotti;
 - analisi dei prodotti alimentari, controllo di qualità di materie prime alimentari, prodotti finiti, additivi, coadiuvanti tecnologici, semilavorati, imballaggi e quanto altro attiene alla produzione, conservazione e trasformazione di prodotti, la definizione degli standard e dei capitoli per i suddetti prodotti;
 - ricerca e sviluppo di processi e prodotti nel campo alimentare.
- Dottore in Scienze delle Preparazioni Alimentari
Iscrizione all'Ordine dei Tecnologi Alimentari, regione Piemonte
(numero iscrizione 14)

Corso di studi superiore

Istituto Tecnico Agrario G. Bonfantini, Novara

Diploma di Perito Agrario

ITALIANO

FRANCESE

BUONO

BUONO

BUONO

CAPACITÀ E COMPETENZE
RELAZIONALI

Vivere e lavorare con altre persone, in ambiente multiculturale, occupando posti in cui la comunicazione è importante e in situazioni in cui è essenziale lavorare in squadra (ad es. cultura e sport), ecc.

CAPACITÀ E COMPETENZE
ORGANIZZATIVE

Ad es. coordinamento e amministrazione di persone, progetti, bilanci; sul posto di lavoro, in attività di volontariato (ad es. cultura e sport), a casa, ecc.

CAPACITÀ E COMPETENZE
TECNICHE

Con computer, attrezzature specifiche, macchinari, ecc.

CAPACITÀ E COMPETENZE
ARTISTICHE

Musica, scrittura, disegno ecc.

POSIZIONE DI LEADERSHIP ALL'INTERNO DELL'AZIENDA
VITA LAVORATIVA A CONTATTO CON ALTRE PERSONE
NOTEVOLE CAPACITÀ RELAZIONALE E DI COMUNICAZIONE

CAPACITÀ DI COORDINAZIONE DI GRUPPI DI PERSONE CON DIFFERENTI COMPETENZE E MANSIONI LAVORATIVE
DECISIONE ANCHE AUTONOMA DI STRATEGIE AZIENDALI
NOTEVOLE LUNGIMIRANZA, INTUITO E CAPACITÀ DI PIANIFICAZIONE

OTTIMA CONOSCENZA DELLE MODALITÀ DI FUNZIONAMENTO DI DIVERSE ATTREZZATURE INDUSTRIALI E MACCHINARI (FERMENTATORI, LIOFILIZZATORI, SISTEMI DI POMPAGGIO, TRATTAMENTO ARIA)
NOTEVOLE CAPACITÀ DI RISOLUZIONE DI PROBLEMI DI NATURA TECNICA
BUONA CONOSCENZA DEL SISTEMA OPERATIVO WINDOWS XP E DEI PROGRAMMI MICROSOFT OFFICE: EXCEL, WORD, POWERPOINT

OTTIMA CAPACITÀ DI SCRITTURA, ANCHE IN LINGUAGGIO GESTIONALE, CONTRATTUALE O TECNICO-SCIENTIFICO

